

# Criblage au champ de l'arachide pour la résistance à l'infestation des graines par *Aspergillus flavus*(1)

V.K. MEHAN<sup>(2)</sup>, AMADOU BA<sup>(3)</sup>, D. McDONALD<sup>(2)</sup>, J.L. RENARD<sup>(4)</sup>, R.C.N. RAO<sup>(2)</sup>, S. JAYANTHI<sup>(2)</sup>

**Mots-clés** . *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, infestation des graines, pré-récolte, résistance.

## INTRODUCTION

Des tests d'inoculation au laboratoire ont mis en évidence la résistance de plusieurs génotypes d'arachide (*Arachis hypogaea* L.) à l'invasion et la colonisation des graines réhydratées, mûres, stockées et intactes par l'*Aspergillus flavus* Link ex Fries aflatoxigène (Mixon et Rogers, 1973; Mixon, 1986; Mehan et McDonald, 1984; Zambettakis *et al.*, 1981). Certains de ces génotypes présentent une résistance avant récolte à l'infestation des graines par *A. flavus*, mais d'autres sont sensibles (Davidson *et al.*, 1983; Kisyombe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1986; Mehan *et al.*, 1987; Zambettakis *et al.*, 1981). D'ailleurs, certains génotypes qui se montrent sensibles dans des tests au laboratoire sont résistants à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* (Kisyombe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1987). Le manque de concordance entre les résultats de résistance mesurés dans les tests d'inoculation au laboratoire et dans les essais au champ met en évidence le risque encouru si l'on se base exclusivement sur la méthode d'inoculation au laboratoire pour la recherche de la résistance. Le criblage au champ permet l'expression des phénomènes de résistance qui opèrent dans la coque et dans la graine pendant les différentes étapes du développement, tandis que les tests de laboratoire ne considèrent que la résistance du tégument des graines mûres. Les évaluations de la résistance de l'arachide à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* se limitent à quelques génotypes (Davidson *et al.*, 1983; Zambettakis *et al.*, 1981; Mehan *et al.*, 1986). Cet article donne les résultats du criblage au champ d'un grand nombre de variétés et de lignées utilisées dans les programmes de sélection pour la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus*.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Des essais de criblage préliminaires ont été réalisés au centre ICRISAT (Lat 17° 3' N, Long. 78° 16' E), Patancheru, Inde. Des essais de criblage plus poussés ont été effectués au centre ICRISAT, Inde, et sur les stations de recherche de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles à Nioro (Lat. 13° 44' N, Long. 15° 49' O) et Bamby (Lat 14° 42' N, Long. 16° 27' O) au Sénégal.

Les données sur la pluviométrie et les températures minima et maxima pendant les saisons culturales proviennent des postes météorologiques de l'ICRISAT et de l'ISRA.

Essais de criblage préliminaires au centre ICRISAT le criblage du matériel génétique d'arachide au centre ICRISAT pour la résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* a commencé pendant la saison des pluies en 1984 et a été poursuivi pendant la saison des pluies en 1985, 1986, 1987, 1988 et 1989, et pendant la saison sèche (1985/86 et 1988/89). 1107 génotypes ont été criblés en tout pendant la période 1984/89. Des détails sur les essais et les génotypes sont donnés dans le tableau II.

Essais réalisés pendant la saison des pluies: tous ces essais ont été semés sur un même terrain, sur un sol sablo-limoneux léger. Du

phosphate super simple (60 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) est appliqué sur tous les essais pendant la préparation du terrain. Les essais ne reçoivent pas d'irrigation complémentaire, étant uniquement pluviaux.

Tous les essais sont semés suivant un dispositif en lattice triple. Les génotypes sont semés dans des parcelles avec répétitions de deux lignes de 4 m, espacées de 30 cm, avec un écartement de 10 cm entre les graines sur la ligne. Les cultures pluviales sont semées sur un terrain plat.

La récolte a lieu lorsque les génotypes atteignent la maturité (les variétés Spanish et Valencia ont été récoltées à 108-110 jours après le semis, et les variétés Virginia Runner à 140 jours après le semis). et les pieds sont mis à sécher les gousses en l'air dans les andains. Après 3 jours, les gousses sont récoltées manuellement et séchées au soleil pour ramener la teneur en eau des graines en dessous de 8 %. Cent graines provenant de gousses intactes, mûres et sèches sont choisies dans la production de chaque parcelle et examinées pour l'infestation par *A. flavus* (Mehan *et al.*, 1986).

Essais réalisés pendant la saison sèche: ces essais ont été semés sur différents terrains, mais toujours sur un sol sablo-limoneux léger. Du phosphate super simple (60 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>) est appliqué pendant la préparation du terrain. Les cultures de saison sèche sont semées sur des planches surélevées. Les essais reçoivent tous une irrigation complémentaire jusqu'à la capacité du champ, tous les 7 jours jusqu'à 95 jours après le semis (JAS). Un stress hydrique est imposé de 95 JAS jusqu'à la récolte (125 JAS) par l'arrêt de l'irrigation.

Les génotypes sont récoltés au moment de leur maturité maximale et les pieds sont séchés pendant deux jours dans les andains, les gousses en l'air. Les gousses sont récoltées manuellement et des échantillons de graines sont pris et examinés pour l'infestation par *A. flavus* (Mehan *et al.*, 1986).

Essais plus poussés au centre ICRISAT : 17 génotypes présentant un taux d'infestation des graines de moins de 2 % ont été choisis à partir de l'essai de criblage préliminaire conduit pendant la saison des pluies en 1984. Ces génotypes, auxquels viennent se rajouter cinq témoins (dont les réponses à l'infestation par *A. flavus* sont connues) ont été criblés dans des essais à répétition au champ pendant la saison des pluies en 1985 et 1986.

14 génotypes ont été criblés pendant la saison des pluies en 1987, dont 11 génotypes qui s'étaient montrés résistants au cours d'un ou plusieurs essais antérieurs (1984-1986), et les variétés témoins J 11 (résistante), NC Ac 17090 et JL 24 (sensibles).

36 génotypes ont été évalués pendant la saison sèche en 1989/90 pour leur résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus*, dont 31 génotypes qui avaient présenté un taux d'infestation des graines de moins de 2 % au cours d'un ou plusieurs essais antérieurs (1984-1989), et les variétés témoins J 11 (résistante), TMV 2, JL 24, NC Ac 17090 et EC 76446 (292) (sensibles).

Essais de criblage plus poussés au Sénégal : 12 génotypes ont été évalués pendant la saison des pluies en 1988 sur deux sites (Nioro et Bamby) au Sénégal pour leur résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus*. Les sols sur ces sites sont légers et sableux, et la sécheresse est fréquente en fin de saison. De l'engrais (N:P:K:6:20:10) a été appliqué à la dose de 150 kg ha<sup>-1</sup> pendant la préparation du terrain. Les graines provenant de tous les génotypes ont été traitées quelques jours avant le semis au Granox (benomyl 10 % : captafol 10 % : carbofuran 20 %) à une dose de 2 g kg<sup>-1</sup>. Les techniques culturales normales ont été pratiquées, et chaque génotype a été récolté exactement au moment de sa maturité optimale.

(1) Soumis en tant qu'article N° 1106 par l'International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT-Inde)

(2) Programme Légumineuses, ICRISAT, Patancheru P.O., A P 502 324, India.

(3) ISRA, Kaolack, Senegal.

(4) CIRAD/IRHO, Montpellier, France.

Ces 12 génotypes comprennent neuf génotypes provenant des essais de criblage antérieurs, le témoin résistant J 11 et les témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422. Les génotypes ont été semés selon un dispositif en lattice rectangulaire 3 x 4 à Nioro et à Bambey. Les parcelles faisaient 6 m de long sur 4,8 m (8 lignes) de large à Nioro, et 6 m de long sur 4 m (8 lignes) de large à Bambey. Les graines ont été semées individuellement, espacées de 15 cm sur la ligne. Le semis a été effectué à deux dates différentes (12-14 jours entre les deux semis) pour obtenir deux situations culturales et améliorer ainsi les chances d'obtenir un stress hydrique. Le second semis de l'essai à Bambey a reçu une irrigation 43 jours après le semis pour éviter qu'un stress hydrique continu ne réduise les rendements de façon trop importante. Les génotypes ont été récoltés à maturité (90-95 jours après le semis) et les pieds mis à sécher en andains pendant quatre jours, les gousses vers le haut. Les gousses mûres ont ensuite été récoltées et séchées au soleil pour obtenir une teneur en eau de 5-6 %. Un échantillon d'1 kg de gousses mûres, intactes et sèches provenant de chaque parcelle a été testé pour l'infestation fongique, selon la méthode décrite par Mehan *et al.* (1986).

Analyse statistique: les taux moyens d'infestation des graines et les écarts types sont estimés par des analyses de variance individuelles, réalisées sur les données pour chaque essai. Les génotypes dont la réponse à l'infestation des graines est proche de celle de la variété témoin résistante J 11, sont considérés résistants à *A. flavus*. Ces génotypes sont rassemblés selon une technique de regroupement (SAS 1985), basée sur leur ressemblance révélée par les données provenant des répétitions. Ces ressemblances se basent uniquement sur des distances unilatérales, puisque seuls les génotypes dont le taux d'infestation est égal ou inférieur au taux du J 11 sont désirables.

En utilisant des valeurs ayant subi une transformation angulaire, une analyse de variance est réalisée pour la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus* dans les différentes situations du Sénégal. Les sites et les dates de semis de l'essai comportant 12 génotypes ont été répartis en 4 situations: 1 (Nioro - 1er semis), 2 (Nioro - 2ème semis), 3 (Bambey - 1er semis) et 4 (Bambey - 2ème semis).

## RÉSULTATS

Un stress hydrique modéré, voire important a été observé au centre ICRISAT pendant la maturation des gousses dans les essais pendant la saison des pluies en 1984, 1986, 1987 et 1989, mais les pluies étaient abondantes et bien réparties sur la saison culturale en 1988 (Tabl. I). Dans les essais pendant la saison sèche, un stress hydrique a pu être imposé en arrêtant l'irrigation pendant les dernières étapes de la maturation des gousses.

Un stress hydrique modéré, voire important, est survenu au Sénégal pendant la maturation des gousses dans les essais des situations 2, 3 et 4. Aucun stress hydrique n'a été observé dans la situation 1 (Tabl. I). Il y a une très grande différence entre les deux sites (Nioro et Bambey) en ce qui concerne la longueur de la saison des pluies et la répartition des pluies. Les températures minima et maxima sur les deux sites sont comparables (à Nioro: max. 28,7-37,5° C, min. 18,6-25,4° C; à Bambey: max. 27,9-38,5° C, min. 16,7-26,0° C).

Essais de criblage préliminaires: dans les essais pendant la saison des pluies, les taux d'infestation des graines par *A. flavus* vont de 0 à 38 (1984, 0-22 %; 1985, 0,3-25,3 %; 1986, 1,3-38 %; 1987, 6,1-28,6 % et 1989, 1,0-11,7 %). Les taux d'infestation par *A. flavus* pour la saison des pluies en 1986 vont de 0,6 à 2,0 et de 5,6 à 15,8 respectivement pour les variétés résistante (J 11) et sensible (JL 24).

Les taux d'infestation chez la variété témoin sensible dans l'essai de saison des pluies en 1988 étaient trop bas (0-3 %) pour permettre d'en tirer des conclusions.

La répartition des génotypes sur six catégories de taux d'infestation par *A. flavus*, fixées arbitrairement, est donnée dans le tableau II. Une trentaine de génotypes présentent des taux d'infestation des graines inférieurs à 2 % pour la saison des pluies en 1984 et 1985, tandis que deux génotypes seulement présentent des taux inférieurs à 2 % pour la saison 1986.

Trois génotypes (ICG 1422, ICG 1818 et ICG 2238) choisis à l'issue de la saison 1984 se sont montrés sensibles (taux d'infestation 2 %) à l'infestation par *A. flavus* pendant la saison 1985.

Les taux d'infestation par *A. flavus* chez la variété témoin sensible (M 13) vont de 11,8 à 31,6 % pendant la saison des pluies en 1987, et de 4 à 22 % en 1989.

Les taux d'infestation des graines vont de 1 à 55,7 % et de 1,7 à 38,7 % respectivement pour la saison sèche en 1985/86 et 1988/89

Sur les 511 génotypes criblés pendant ces deux périodes, un seul a un taux d'infestation des graines inférieur à 2 % (Tabl. II).

Les taux moyens d'infestation des graines sont plus élevés chez les génotypes du groupe Valencia que chez ceux du groupe Spanish; ce phénomène est plus marqué pour la saison sèche en 1985/86 et 1988/89 (24,6 % chez les Valencia contre 18,4 % chez les Spanish en 1985/86; 15,1 % chez les Valencia contre 7,12 % chez les Spanish en 1988/89) que pour la saison des pluies en 1986 (10,2 % chez les Valencia contre 9,2 % chez les Spanish).

Une analyse par regroupement a été réalisée pour rassembler les génotypes des essais dont le comportement vis-à-vis de l'infestation des graines par *A. flavus* est proche du comportement de la variété J 11. Dix-sept génotypes se regroupent avec J 11 pour la saison des pluies en 1984, 2 pour 1985 et 5 pour 1986 (Tabl. III). Aucun génotype ne se regroupe avec J 11 pour la saison des pluies en 1987 et 1989.

Neuf génotypes se regroupent avec J 11 pour la saison sèche en 1985/86, et 5 pour celle de 1988/89.

Essais de criblage plus poussés: les taux d'infestation des graines par *A. flavus* chez les génotypes testés pendant la saison des pluies en 1985, 1986 et 1987 sont donnés dans le tableau IV. L'on observe une différence significative entre les génotypes en ce qui concerne l'infestation par *A. flavus* pour les trois saisons. Les pourcentages de graines infestées chez les génotypes J 11, U 4-47-7, Exotic 6, Ah 7223, 55-437, PI 337394F, UF 71513 et Ah 7827 sont nettement moins élevés (0,7 %) que chez les génotypes sensibles (EC 76446 (292), NC Ac 17090, JL 24 et TMV 2), mais il n'y a pas de différence significative entre eux en ce qui concerne le taux d'infestation des graines. Le taux d'infestation des graines est généralement plus élevé pour la saison des pluies 1986 que pour les autres saisons. Neuf génotypes choisis dans les essais préliminaires en 1984 et 1985, à savoir ICG 1422, ICG 1436, ICG 1720, ICG 1811, ICG 2359, ICG 3241, ICG 3251, ICG 3660 et ICG 4106 se montrent sensibles à l'infestation par *A. flavus* (taux d'infestation 3 %) pour la saison 1986 (Tabl. IV).

Les taux d'infestation chez 36 génotypes testés pendant la saison sèche en 1989/90 sont donnés dans le tableau V. Il existe des différences significatives entre les génotypes en ce qui concerne l'infestation des graines. Vingt-cinq génotypes présentent un taux d'infestation des graines 2 %, dont huit (ICG 1326, 3263, 3336, 3700, 4106, 4749, 4888 et 7633) ont présenté systématiquement un taux d'infestation des graines 2 % au cours des essais antérieurs (1985-1987) (Tabl. IV).

Les pourcentages moyens de graines infestées par *A. flavus* chez 12 génotypes testés dans quatre situations au Sénégal sont donnés dans le tableau VI. Il existe des différences génotypiques significatives en ce qui concerne l'infestation des graines par *A. flavus* dans chacun des quatre situations. Les génotypes J 11, U4477, UF 71513, PI 337394F, Ah 7223, 55-437, Exotic 6, U475, VRR 245 et 73-30 présentent des taux d'infestation par *A. flavus* peu élevés (0,0-4,0 %). Les génotypes témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422 présentent des pourcentages de graines infestées par *A. flavus* largement plus élevés que tous les autres génotypes dans chacune des quatre situations. Les taux d'infestation sont peu élevés (0,0-5,6 %) pour tous les génotypes dans la situation 1. Les taux d'infestation des graines sont largement plus élevés chez tous les génotypes dans les situations 3 et 4 que dans les autres situations (Tabl. VI). Les interactions entre les génotypes et les situations sont significatives en ce qui concerne l'infestation des graines par *A. flavus*. Ce phénomène est plus marqué chez les génotypes témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422.

## DISCUSSION

Un criblage efficace de la résistance n'a été possible dans ces essais que pendant la saison des pluies en 1986 et pendant la saison sèche en 1985/86 et 1988/89, lorsque le stress hydrique pendant le développement et la maturation des gousses a été important, ce qui favorise l'infestation des graines par *A. flavus* (Davidson *et al.*, 1983; Hill *et al.*, 1983). Les variations entre les variétés vis-à-vis de l'infestation des graines par *A. flavus* sont marquées dans des conditions de stress hydrique important pendant la saison des pluies en 1986 au centre ICRISAT et pendant la saison des pluies en 1988 au Sénégal (situations 2, 3 et 4). Ceci souligne l'influence de l'intensité de la sécheresse en fin de maturation sur les taux d'infestation des graines par *A. flavus* (Blankenship *et al.*, 1984; Hill *et al.*, 1983).

Sur les 25 génotypes dont la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus* est reconnue, neuf (J 11, U4-47-7, Exotic 6, Ah 7223,

55-437, U4-7-5, PI 337394F, VRR 245 et UF 71513) ont présenté systématiquement des réponses de résistance dans tous les essais à l'ICRISAT et au Sénégal. Certains de ces génotypes (J 11, U4-47-7, PI 337394F, UF 71513 et Ah 7223) s'étaient déjà montrés résistants sur plusieurs sites en Inde (Mehan *et al.*, 1987). Les résultats présentés ici représentent une confirmation supplémentaire de la résistance à l'infestation par *A. flavus* chez ces génotypes et de sa stabilité dans différentes situations. Pourtant, les génotypes Exotic 6, U4-7-5 et VRR 245, sensibles à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus*, se sont montrés résistants à l'infestation des graines au champ, tandis que deux génotypes de type Virginia Runner, Monir 240-30 et GFA 2, dits résistants à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus* (Mixon, 1986; Mehan et McDonald, 1984), se sont montrés sensibles à l'infestation naturelle des graines. Ces résultats concordent avec les travaux antérieurs de Kisyombe *et al.* (1985) et Mehan *et al.* (1987), et soulignent l'impossibilité de conclure que tous les génotypes présentant une résistance à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus* présenteront une résistance à l'infestation naturelle des graines au champ, ou que tous les génotypes sensibles à la colonisation des graines *in vitro* seront sensibles à l'infestation des graines au champ par le champignon, ce qui souligne l'importance d'étudier les mécanismes de résistance.

La sécheresse pré-récolte modérée, voire importante et les conditions de séchage favorables après la récolte indiquent que la plus grande partie de l'infestation chez les génotypes témoins aurait lieu avant la récolte, ce qui souligne la présence d'une résistance pré-récolte à l'infestation.

Les génotypes résistants à la fois à la colonisation *in vitro* des graines (utile après la récolte) et à l'infestation des graines avant la récolte pourraient être exploités pour minimiser la contamination par les aflatoxines dans les endroits où la contamination risque de survenir soit avant, soit après la récolte. L'existence d'une importante résistance chez les variétés commerciales J 11 et 55-437 pourrait être exploitée immédiatement pour minimiser la contamination par les aflatoxines dans certaines situations. Ces variétés sont bien adaptées à la culture pluviale, et donnent des rendements satisfaisants dans de nombreuses régions de l'Inde et du Sénégal (Mehan *et al.*, 1987; Mehan, non publié; Zambettakis *et al.*, 1981). Les risques de contamination par les aflatoxines doivent être déterminés pour tous les composants de la production commercialisable, puisque la plupart

des évaluations réalisées à ce jour se sont limitées à des graines mûres et intactes.

L'évaluation des génotypes d'arachide pour la résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* s'est basée en général sur les cultures pluviales, dont certaines subissent une sécheresse pendant le développement des gousses (Davidson *et al.*, 1983; Mehan *et al.*, 1986; Zambettakis *et al.*, 1981). Le criblage pendant un stress hydrique forcé vers la fin de la saison sèche devrait être plus efficace sur des sites tels le centre ICRISAT, où les températures pendant le développement et la maturation des gousses chez les cultures irriguées de la saison sèche sont nettement plus élevées (max. 34,2-40,0° C, min. 17,3-26,7) que chez les cultures de la saison des pluies (max. 25,2-34,5° C, min. 16,0-24,2). Les températures élevées, rajoutées à un stress hydrique en fin de culture, favorisent l'infestation par *A. flavus* et la production d'aflatoxines qui s'ensuit (Blankenship *et al.*, 1984).

**Remerciements.** — Le premier auteur est très reconnaissant à l'administration de l'ICRISAT, qui lui a accordé un congé sabbatique d'un an, et à l'ISRA, Sénégal et au CIRAD-IRHO, Montpellier (France) qui lui ont permis de passer deux périodes de six mois en tant que chercheur invité dans le cadre des sous-programmes Pathologie des deux Instituts. Les auteurs souhaitent remercier le Dr. A. Bockelée-Morvan, Directeur de la Division Oléagineux Annuels de l'IRHO, Paris (France) d'avoir coordonné les recherches au Sénégal et en France et d'en avoir assuré le financement. Nos remerciements vont également au Dr. R. Schilling, Directeur Adjoint de la Division Oléagineux Annuels de l'IRHO-CIRAD, Montpellier (France) qui a assuré les moyens de travail à Montpellier, et au Dr. L. Cisse, Directeur du Département Production Agricole à l'ISRA, Dakar, Sénégal, qui nous a apporté son soutien précieux et qui a assuré les moyens nécessaires à la conduite des essais au champ au Sénégal. Nous avons apprécié la coopération et le soutien des Dr. A. Rouzière, technologiste (arachide) à l'ISRA, Kaolack, et J.C. Mortreuil, sélectionneur arachide à l'ISRA, Bambey pour la conduite des essais au champ au Sénégal. Nous tenons également à remercier MM. Emilien Sarr, Mamadou Dia, Salioy Sy et Ibrah Fall assistants techniques à l'ISRA, Kaolack/Bambey, Sénégal.